361—367 11102(12

动 物 学 研 究 1992, 13(4):361—367 ISSN 0254—5853
Zoological Research CN 53—1040/Q

# 中缝背核对猫小脑浦肯野细胞电活动的影响*

王建军 吴劲梓 张敏跃 陈 均 陈文雁 余启祥
(南京大学生物系 210008)

Q959.838

**摘要** 在麻醉并麻痹的猫上观察到：刺激中缝背核（DR）可引起小脑皮层浦肯野细胞（PC）兴奋或抑制（主要是抑制）；由被动性腕关节屈伸运动刺激引起的外周本体性传入可以增强或减弱PC对DR刺激的反应。这些结果表明中缝-小脑5-HT能纤维的传入活动可以调制PC的放电活动，并与外周传入有相互作用。

**关键词**：中缝背核，小脑皮层，浦肯野细胞，中缝-小脑投射 猫，中缝背核

1960年Brodal等首先报告，损毁猫小脑皮层下核团可使中缝核群神经元产生逆行性溃变。随后，许多研究者用不同的方法证实中缝核有直接的5-HT能纤维投射到小脑皮层和皮层下核团（Hökefelt *et al.*, 1969; Shinnar *et al.*, 1975; Taber-Pierce *et al.*, 1977; Takeuchi *et al.*, 1982），从而构成了小脑的5-HT能纤维传入系统（Bloedel *et al.*, 1981）。目前对该传入系统在小脑功能活动中的作用还了解不多。一些作者曾报告，向鼠小脑皮层微电泳5-HT可以改变PC的自发放电活动（Bloom *et al.*, 1972; Strahlendorf *et al.*, 1984）。本文旨在研究刺激DR对小脑PC电活动的影响以及中缝传入与外周本体性传入的相互作用，以进一步了解中缝-小脑5-HT能纤维传入系统的功能。

## 材料与方法

实验用体重2.0—3.5kg猫42只。在2%硫贲妥钠（2.0ml/kg, ip）麻醉下做气管插管和股静脉插管、脑脊液引流，暴露小脑皮层第Ⅴ—Ⅶ小叶。实验中除用2%硫贲妥钠（0.1ml/kg/hr, iv）维持麻醉外，还用箭毒（0.4mg/kg/hr, iv）麻痺动物，施加人工呼吸，监测心电，维持体温于37℃左右。

用同心电极对DR（P1.0, LR0.0, H-0.5—1.0; Snider *et al.*, 1961）施加电刺激（100—500μA, 0.2ms, 25Hz, 4s, 负向方波串），以激发中缝-小脑投射纤维的活动。用一台由Z-80单板计算机控制的运动刺激装置（Yu *et al.*, 1985）推动动物前肢掌背（推进距离3mm，往返动作时间50ms），使其腕关节产生一次轻微的被动性屈伸运动（下称屈伸运动刺激），以激发外周本体性传入活动。用玻璃微电极记录小脑皮层第Ⅴ和第ⅦA小叶蚓部的PC单位放电及其对DR和屈伸运动刺激的反应。PC的电生理学鉴定标准是：在快速不规则（20—80 Hz）的简单锋电位（SS）发放中夹杂着低频

* 国家自然科学基金和国家教委年轻教师基金资助项目。
本文1991年5月15日收到，1992年5月5日修回。

(0.1—1 Hz) 的复杂锋电位 (CS) 发放 (Yu *et al*., 1985)。

记录到PC的单位放电之后，先后对动物施加DR和屈伸运动刺激，观察PC对这些刺激的反应；如果PC对这两种刺激均产生反应，则在2次/秒连续的屈伸运动刺激下同时施加DR刺激，观察外周传入与中缝传入两者在PC上的相互作用。PC的SS和CS信号，分别由CZQ-2窗口甄别器检出，输入KDS-1生理数据处理机，做出刺激后时间直方图 (PSTH)，并用打印机绘图。数据的统计学处理用T-测验。

用普鲁士蓝反应法标定DR刺激电极尖端的位置，经冰冻切片检查，凡刺激点偏离DR的，其数据被舍弃。

## 结 果

**1.刺激DR对PC自发电活动的影响** 刺激DR对PC的自发SS和CS发放均有调制作用。在第Ⅴ和第ⅥA小叶蚓部共观察了188个PC对刺激DR的反应，其中80个 (43%) 对刺激发生反应。在这80个反应细胞中，61个 (76%) 在刺激后出现放电抑制，19个 (24%) 出现兴奋 (图1)。PC对DR刺激的反应潜伏期为0.1—18s，反应的持续时间

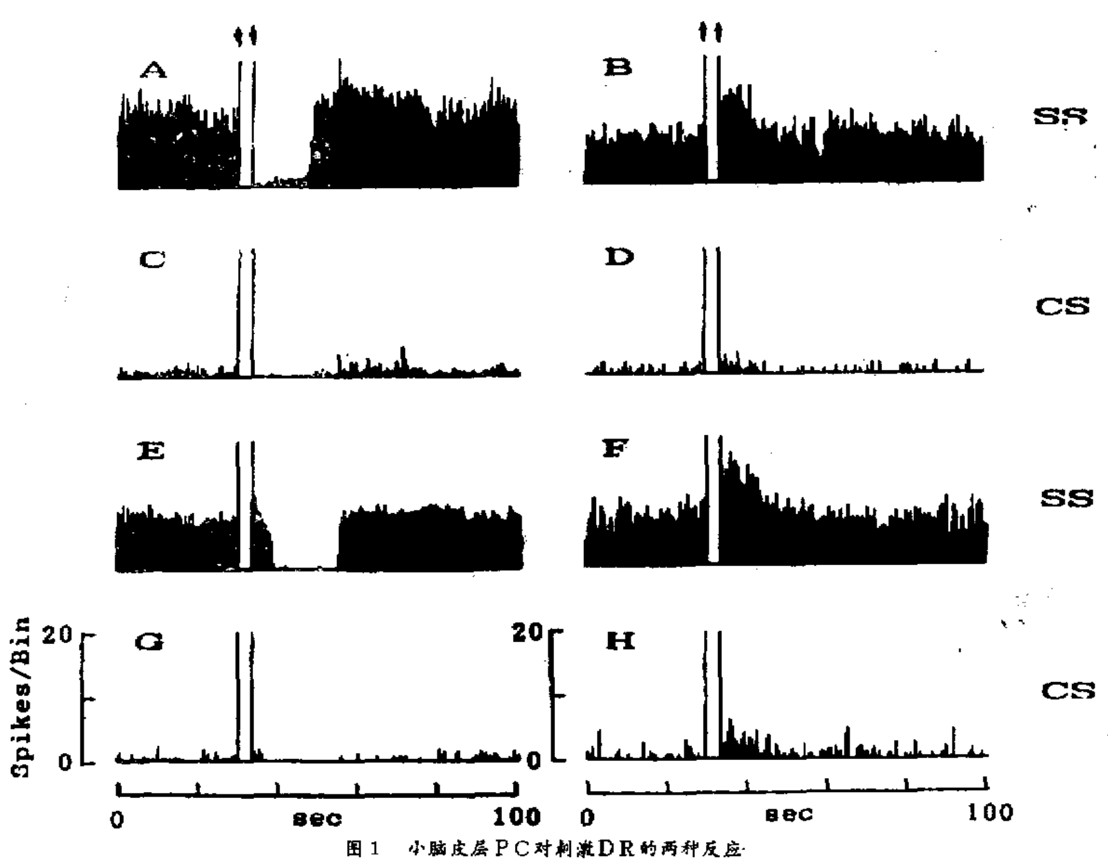



图1 小脑皮层PC对刺激DR的两种反应

Fig. 1 Two types of responses of the cerebellar Purkinje cells to the stimulation of dorsal raphe nucleus

A、C和E、G：小脑皮层ⅥA和Ⅴ小叶上两个PC对中缝刺激的抑制性反应。B、D和F、H：ⅥA和Ⅴ小叶上另外两个PC对中缝刺激的兴奋性反应。各直方图均为一次扫描的结果，采样bin宽200ms；箭头分别指出刺激的起始和终止，持续4s。SS：简单锋电位；CS：复杂锋电位。

为5—40s；抑制性反应的平均潜伏期（4.03±0.85s）长于兴奋性反应的平均潜伏期（1.75±0.42s）。

PC对DR刺激的反应程度与刺激强度有依赖关系。如图2所示，DR刺激使该PC先出现短暂的兴奋，继之以长时程的刺激后抑制，其受抑制的程度和时程随刺激强度的增大而增大。CS的变化与SS的变化大致平行。

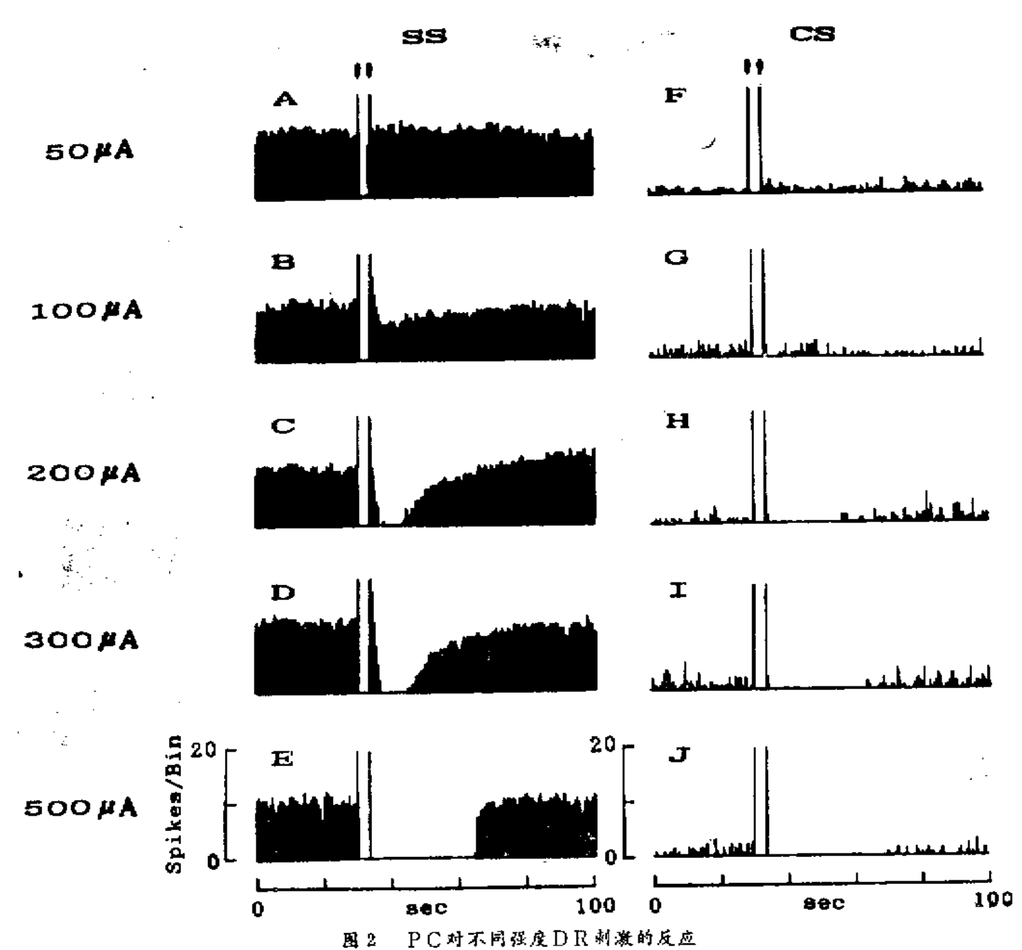



图2　PC对不同强度DR刺激的反应

Fig. 2　Responses of a Purkinje cell to dorsal raphe stimulus at different current intensities

随着中缝刺激电流的加大，PC的抑制性反应亦加大。

**表1　对中缝刺激有反应的PC在小脑皮层第Ⅴ和第Ⅶ A小叶上的分布差异**

**Tab. 1　Distribution of Purkinje cells responsive to the raphe stimulation in loubles Ⅴ and Ⅶ A**

| 细胞的位置 | 细胞总数 | 有反应的细胞数 | | 有反应细胞的百分比(%) |
|---|---|---|---|---|
| | | 抑制 | 兴奋 | |
| Ⅴ | 126 | 32 | 13 | 36 |
| Ⅶ A | 62 | 29 | 6 | 57 |

对记录的188个PC按其所处的位置归类后，发现第ⅦA小叶的PC对DR刺激发生反应的比率大于第Ⅴ小叶，两者的差异有统计学意义（$P<0.05$）；但无论是在第ⅦA还是在第Ⅴ小叶，PC对DR刺激的反应主要是抑制（表1）。

**2. PC对腕关节屈伸运动刺激的反应** 屈伸运动刺激可使同侧小脑皮层的PC产生潜伏期小于20ms的兴奋或抑制反应（图3）。

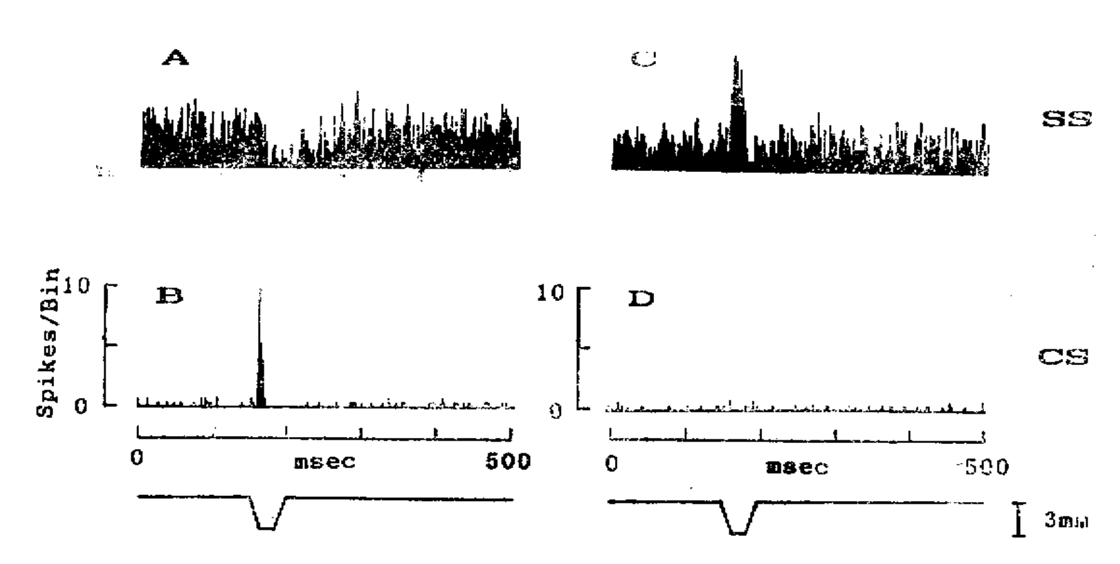



图3 PC对前肢被动性屈伸运动刺激的反应

Fig. 3 Response of two Purkinje cells to stimuli caused by a flexion-extension passive movement on the ipsilateral forepaw

第一个PC对刺激出现抑制性简单锋电位反应（A）和兴奋性复杂锋电位反应（B）。第二个PC仅产生兴奋性简单锋电位反应（C）。所有直方图均为100次扫描的叠加，采样bin宽1ms。B和D下的曲线为屈伸运动刺激标记。

与表1的结果不同，对屈伸运动刺激有反应的PC多分布在第Ⅴ小叶内（表2），这种分布差异亦有统计学意义（$P<0.05$）。

**表2 对屈伸运动刺激有反应的PC在小脑皮层第Ⅴ和第ⅦA小叶上的分布差异**

**Tab. 2 Distribution of Purkinje cells responsive to the forepaw flexion-extension movement stimulation in loubles Ⅴ and ⅦA**

| 细胞的位置 | 细胞总数 | 有反应的细胞数 | 无反应的细胞数 | 有反应细胞的百分比(%) |
|---|---|---|---|---|
| Ⅴ | 170 | 78 | 92 | 46 |
| ⅦA | 70 | 8 | 62 | 11 |

**3. 屈伸运动刺激对DR刺激调制PC电活动的影响** 由屈伸运动刺激引起的外周传入可以改变PC对DR刺激的反应。如图4 A—F所示的第一个PC，对屈伸刺激有SS抑制和CS兴奋的反应（A和D）。在该PC的自发活动状态下，刺激DR（B中双箭头指出）使其产生幅度较大的抑制性SS反应（B）；而当该PC接受2次/秒连续屈伸刺激的

同时，刺激 DR 所引起的抑制性 SS 反应幅度显著地减小（C）。G—L所示的另一个 PC，在外周传入激发状态下对DR刺激的SS反应（I），与其在自发状态下的反应（H）相比，则出现了一个显著的抑制增强。

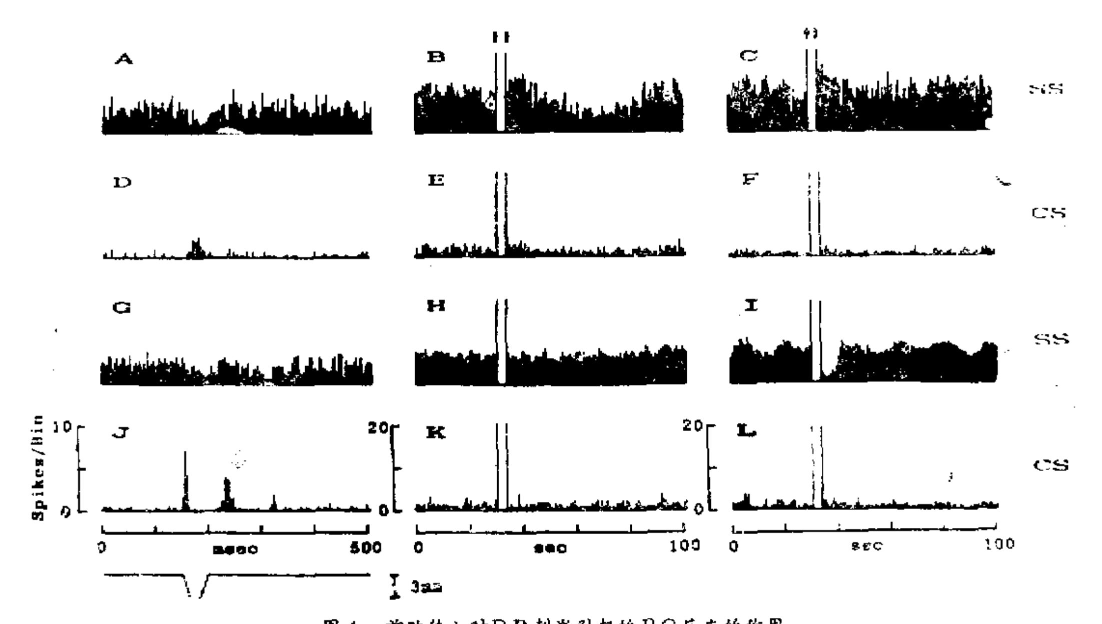



图 4　前肢传入对DR刺激引起的PC反应的作用

Fig. 4　Effect of forepaw somatic inputs on the Purkinje cells' response induced by dorsal raphe stimulus

所示的两个PC(A—F和G—L)对前肢屈伸运动刺激产生抑制性简单锋电位反应（A和G)。第一个PC对中缝刺激出现抑制性简单锋电位反应（B)，而第二个PC对中缝刺激无反应（H)。当这两个细胞接受连续的前肢传入时，对中缝刺激的反应发生变化（C和I)。直方图A、D和G、J为100次扫描的叠加，采样bin宽1ms；其余各直方图为1次扫描的结果，bin宽200ms。

统计结果表明，在47个对屈腕运动刺激有反应的 PC 中，19个（40%）在外周传入的作用下对 DR 刺激的反应有显著的改变；而71个对屈腕刺激无反应的 PC 中，仅8个（11%）在屈腕刺激的条件下对 DR 刺激的反应有变化，两组数据有统计学差异（$P<0.05$)。

## 讨　论

关于中缝-小脑 5-HT 能纤维投射对小脑皮层神经元电活动的影响的研究还不多。Woodward 等（1971）最先在尚缺乏5-HT能纤维分化的新生大鼠小脑上和经X-线破坏了5-HT能纤维的大鼠小脑上发现，微电泳5-HT对PC的唯一直接效应是抑制。Bloom等（1972）在正常成年大鼠上则发现，微电泳 5-HT 对 PC 的作用与使用的不同麻醉剂有关。在水合氯醛麻醉下，5-HT 可引起PC的抑制性和兴奋性反应，两种反应细胞大约各为记录细胞的一半；而使用 Halothane浅麻醉，则所有记录细胞均呈抑制性反应。Stra-

hlendorf等（1984）新近的研究进一步表明，微电泳5-HT除可引起PC的兴奋和抑制反应外，还可引起PC的兴奋-抑制双相反应。我们在整体动物上刺激5-HT能神经元最为集中的DR，亦能引起PC的兴奋和抑制反应，而主要的反应是抑制。这一结果支持了Bloom等的发现，并提示在正常生理状态下，中缝-小脑5-HT能投射纤维可以通过其对PC的抑制作用而影响小脑皮层的机能活动。形态学研究发现，进入小脑皮层的5-HT能纤维末梢弥散地分布在小脑皮层各亚层内，据此Chan-Palay（1977）曾推测：5-HT能纤维既可能通过突触作用兴奋颗粒细胞，再由后者的轴突平行纤维将兴奋传递给PC，引起PC的兴奋性活动；也可能以释放的5-HT在PC层中产生神经体液性作用，进而影响到PC的活动。后来的研究揭示，小脑皮层内的5-HT能纤维末梢有曲张体结构（Takeuchi *et al*.，（1982），表明它们可能会通过释放5-HT发挥非突触性化学传递作用。在我们的实验中，抑制性反应的平均潜伏期和反应的持续时间均较长，而且反应的幅度随着DR刺激的强度加大而增大（图2）。我们认为，PC的抑制性反应可能是由5-HT的非突触性作用引起的；而兴奋性反应的平均潜伏期比抑制性反应的为短，因此除5-HT的非突触性作用机制之外，也不能排除它们是由5-HT能纤维经颗粒细胞-平行纤维对PC的突触传递作用所引起的可能性。

鉴于小脑皮层前、后叶的功能差异（Bloedel *et al*.，1981），我们选择前叶的第Ⅴ小叶和后叶的第ⅥA小叶为探查对象，对比了小脑皮层前、后叶的PC对DR和屈伸运动刺激反应的分布差异。结果表明，对DR刺激有反应的PC多分布于第ⅥA小叶（表1），这与解剖学研究所揭示的中缝5-HT能投射纤维末梢以该小叶最为密集的结果相吻合（Taber-Pierce *et al*.，1977）；而对屈伸运动刺激有反应的PC主要分布在前肢的投射区第Ⅴ小叶（表2）也是容易理解的。尽管DR和屈伸刺激对小脑皮层Ⅴ、ⅥA小叶PC的作用存在显著的区域性差异，但两者的作用区域仍有一定程度的重叠，这表明它们的传入信息可能在同一PC上会聚并发生相互作用。我们的结果证明，当PC接受外周传入的连续冲击时，其对DR刺激的反应发生显著的改变（图4C、I）。这一现象提示，PC的机能状态因外周传入的激发而变化时，也会影响到PC上5-HT受体的机能状态和/或5-HT与其受体结合的过程，从而使PC对DR刺激的反应发生相应的变化。综上所述，我们认为中缝-小脑投射纤维的功能可能是通过释放的5-HT，在小脑皮层中主要以非突触的化学传递作用调节PC的基础放电活动，使其在适当的水平上对特定的外周传入发生反应。由于PC是小脑皮层中的主要神经元成份和唯一的传出，推测中缝-小脑5-HT能投射纤维对PC的这种作用，将影响到经小脑皮层的感觉运动整合过程，并进而影响到动物的行为状态。

## 参 考 文 献

Bloedel, J.R. and J. Courville. 1981. Cerebellar afferent systems. In: V.B. Books.(Ed.), *Handbook of Physiology*. 735—830. Williams and Wilkins, Baltimore.

Bloom, F.E. *et al*. 1972. Effects of serotonin on central neurons: microiontophoretic administration. *Fed. Proc*. 31:97—106.

Brodal, A. *et al*. 1960. The raphe nuclei of the brain stem in the cat. Ⅱ. Efferent projections. *J. Comp. Neurol*. 114:249—259.

Chan-Palay, V. 1977. Cerebellar dentate nucleus: organization, cytology and transmitters. Springer-Verlag, New York.

Hökfelt, T. and K. Fuxe. 1969. Cerebellar monoamine nerve terminals: a new type of afferent fiber to the cortex cerebelli. *Exp. Brain Res.* 9:63—72.

Shinnar, S. *et al.* 1975. A raphe projection to cat cerebellar cortex. *Brain Res.* 97: 139—143.

Snider, R.S. and W.T. Niemer. 1961. A stereotaxic atlas of the cat brain. The University of Chicago Press.

Strahlendorf, J. C. *et al.* 1984. Effects of serotonin on cerebellar Purkinje cells are dependent on the baseline firing rate. *Exp. Brain Res.* 56: 50—58.

Taber-Pierce, E. *et al.* 1977. The cerebellar projection from the raphe nuclei in the cat as studied with the method of retrograde transport of horseradish peroxidase. *Anat. Embryol.* 152: 73—88.

Takeuchi, Y. *et al.* 1982. Immunohistochemical demonstration of serotonin-containing nerve fibers in the cerebellum. *Cell* Tiss. *Res.* 226: 1—12.

Woodward, D. J. *et al.* 1971. The ontogenetic development of synaptic junctions, synaptic activation and responsiveness to neurotransmitter substances in rat cerebellar Purkinje cells. *Brain Res.* 34: 73—97.

Yu, Q.-X. *et al.* 1985. Electrophysiological study of the cortico-nuclear projection in the cat cerebellum. *Brain Res.* 327: 121—134.

# INFLUENCE OF DORSAL RAPHE NUCLEUS ON ELECTRICAL ACTIVITY OF THE CEREBELLAR PURKINJE CELL IN THE CAT*

Wang Jianjun Wu Jinzi Zhang Minyue Chen Jun
Chen Wenyan Yu Qixiang

*(Department of Biology, Nanjing University, Nanjing* 210008)

In thiopentone-anaesthetized and curarized cats we found that dorsal raphe (DR) stimulation could elicit long latency inhibitory, and in fewer cases, excitatory responses in cerebellar Purkinje cells (PC), and the peripheral inputs elicited by passive forepaw flexion-extension movements may enhance or reduce the response of PCs to DR stimulation. The results suggest that the raphe-cerebellar serotonergic fiber may modulate PC's activity and interact with the peripheral input.

**Key words:** Dorsal raphe nucleus, Cerebellar cortex, Purkinje cell, Raphe-cerebellar projection

* This research was supported by the grants from the National Natural Science Foundation and the FEYUT of the State Education Commission of China.